



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201515659 A

(43)公開日：中華民國 104 (2015) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：103128400

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 08 月 19 日

(51)Int. Cl. : **A61K36/88 (2006.01)**

(30)優先權：2013/10/29 日本

2013-224483

(71)申請人：芳珂股份有限公司 (日本) FANCL CORPORATION (JP)

日本

岡安商店股份有限公司 (日本) OKAYASU SHOTEN CO., LTD. (JP)

日本

(72)發明人：奧原康英 OKUHARA, YASUhide (JP)；伊藤幸彦 ITO, YUKIHIKO (JP)；岡安武藏 OKAYASU, MUSASHI (JP)；西尾和正 NISHIO, KAZUMASA (JP)；小林真起子 KOBAYASHI, MAKIKO (JP)；山川淳子 YAMAKAWA, JUNKO (JP)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：3 項 圖式數：1 共 17 頁

(54)名稱

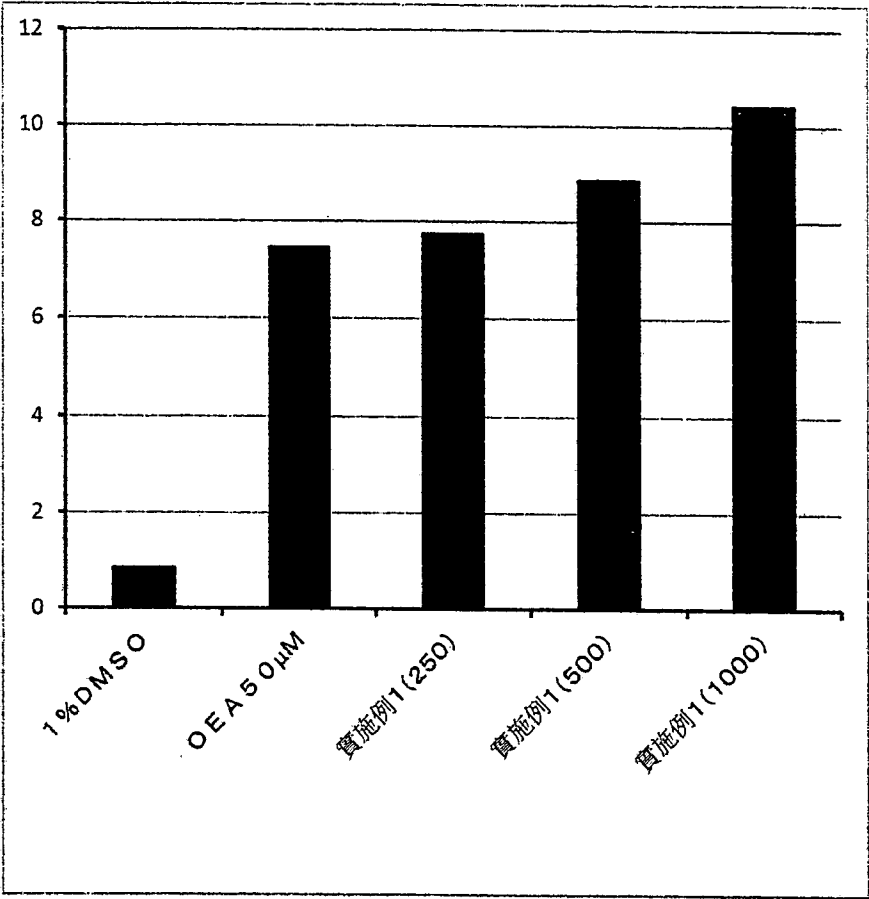
米糠萃取物

RICE BRAN EXTRACT COMPOSITION

(57)摘要

本發明的課題在於提供具有抗氧化活性及 GLP-1 產生促進作用的米糠萃取物。一種米糠萃取物，其特徵在於，含有 2.7 至 4.1 質量%的醯化甾醇糖苷、1.4 至 2.1 質量%的 γ -谷維素、以硬脂醯·油醯·卵磷脂換算 18 至 28 質量%的磷脂，且在水解時相對於水解前的質量含有 20 至 30 質量%的亞油酸、24 至 37 質量%的油酸、11 至 17 質量%的棕櫚酸、1.7 至 2.6 質量%的植物甾醇。

The object of this invention is to provide a rice bran extract composition which has anti-oxidative activity and stimulating effect for GLP-1 production. The rice bran extract composition of the present invention contains 2.7 to 4.1 mass% of acylated sterol glycoside, 1.4 to 2.1 mass% γ -orizanol, and 18 to 28 mass% of phospholipid converted in terms of stearyl oleoyl phosphatidylcholine. When the rice bran extract composition is hydrolyzed, it contains 20 to 30 mass% of linoleic acid, 24 to 37 mass% of oleic acid, 11 to 17 mass% palmitic acid, and 1.7 to 2.6 mass% phytosterol, based on the mass before hydrolysis.



第1圖

發明摘要

※申請案號：103128400

※申請日：103.8.19

※IPC分類：

【發明名稱】(中文/英文)

A61K 36/88 (2006.01)

米糠萃取物

RICE BRAN EXTRACT COMPOSITION

【中文】

本發明的課題在於提供具有抗氧化活性及 GLP-1 產生促進作用的米糠萃取物。一種米糠萃取物，其特徵在於，含有 2.7 至 4.1 質量%的醯化甾醇糖苷、1.4 至 2.1 質量%的 γ -谷維素、以硬脂醯·油醯·卵磷脂換算 18 至 28 質量%的磷脂，且在水解時相對於水解前的質量含有 20 至 30 質量%的亞油酸、24 至 37 質量%的油酸、11 至 17 質量%的棕櫚酸、1.7 至 2.6 質量%的植物甾醇。

【英文】

The object of this invention is to provide a rice bran extract composition which has anti-oxidative activity and stimulating effect for GLP-1 production. The rice bran extract composition of the present invention contains 2.7 to 4.1 mass% of acylated sterol glycoside, 1.4 to 2.1 mass% γ -orizanol, and 18 to 28 mass% of phospholipid converted in terms of stearyl oleoyl phosphatidylcholine. When the rice bran extract composition is hydrolyzed, it contains 20 to 30 mass% of linoleic acid, 24 to 37 mass% of oleic acid, 11 to 17 mass% palmitic acid, and 1.7 to 2.6 mass% phytosterol, based on the mass before hydrolysis.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

該代表圖無元件符號及其所代表之意義。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

本案無化學式。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

米糠萃取物

RICE BRAN EXTRACT COMPOSITION

【技術領域】

【0001】 本發明涉及米糠萃取物。

【先前技術】

【0002】 米糠是將糙米進行精白時產生的果皮、種皮、胚芽等的部分。在米糠中含有各種有用成分。作為代表性的成分，可例示植酸、肌醇、阿魏酸、 γ -谷維素、膳食纖維、蛋白質、維生素 B1、維生素 B6、維生素 E、礦物質等。提出了利用了上述成分的米糠的萃取物配合食品、飲料。在專利文獻 1(日本特開第 2002-20307 號公報)中記載了以米糠中的含有無機質、維生素 B 族、膳食纖維、植酸及蛋白質的水溶性米糠萃取物作為有效成分，且具有活性氧去除功能的抗氧化性組成物。在專利文獻 2(日本特開第 2007-223990 號公報)中記載了使用亞臨界乙醇或者超臨界乙醇從糙米、白米及米糠萃取的抗氧化組成物。在專利文獻 3(日本特開第 2012-188574 號公報)中記載了將脫脂米糠等用微細化處理及加熱處理中的至少一種進行處理而形成的抗氧化物質。

先前技術文獻

專利文獻

【0003】

專利文獻 1 日本特開第 2002-20307 號公報

專利文獻 2 日本特開第 2007-223990 號公報

專利文獻 3 日本特開第 2012-188574 號公報

【發明內容】

【0004】 本發明的課題在於提供具有抗氧化活性及 GLP-1 產生促進作用的米糠萃取物。

【0005】 本發明的主要構成如下。

(1) 一種米糠萃取物，其特徵在於，含有 2.7 至 4.1 質量％的醯化甾醇糖苷、1.4 至 2.1 質量％的 γ -谷維素、以硬脂醯・油醯・卵磷脂換算 18 至 28 質量％的磷脂，且在水解時相對於水解前的質量含有 20 至 30 質量％的亞油酸、24 至 37 質量％的油酸、11 至 17 質量％的棕櫚酸、1.7 至 2.6 質量％的植物甾醇。

(2) 一種抗氧化劑，其特徵在於，以(1)所述的米糠萃取物作為有效成分。

(3) 一種 GLP-1 產生促進劑，其特徵在於，以(1)所述的米糠萃取物作為有效成分。

【0006】 根據本發明可提供抗氧化效果優異的米糠萃取物。

進而，本發明的米糠萃取物具有類升糖素肽-1 (glucagon-like peptide-1，以下，簡寫為 GLP-1。)的產生促進作用，作為 GLP-1 產生促進劑也有用。

【圖式簡單說明】

【0007】

第 1 圖為表示本發明的米糠萃取物濃度依存性地促進來自人大腸細胞的培養細胞的 GLP-1 產生的圖。

【實施方式】

【0008】 本發明的米糠萃取物中所包含的醯化甾醇糖苷是醯基或糖鏈不同的化合物的總稱，在天然物中通常作為多個成分的混合物存在。醯化甾醇糖苷的構成糖主要是葡萄糖。此外，構成甾醇是 β -谷甾醇、豆甾醇、菜油甾醇等。表明醯化主要是葡萄糖的 6 位被脂肪酸醯化，構成脂肪酸主要是亞油酸、油酸、棕櫚酸(帶大研報，10，(1977) 507 至 514)。

【0009】 本發明的米糠萃取物含有 2.7 至 4.1 質量％的上述醯化甾醇糖苷。

【0010】 本發明所使用的米糠萃取物中的醯化甾醇糖苷的含量測定可通過以下方法進行。

- (1) 適量稱取米糠萃取物並加入氯仿／甲醇混合液(氯仿：甲醇＝2：1)，用量瓶定容。
- (2) 根據成分濃度將通過(1)所得到的溶液適當稀釋並作為分析用試樣溶液。
- (3) 標準品為酯化硬脂基葡萄糖苷(Funakoshi)，通過高效液相層析法來計算醯化甾醇糖苷的濃度。
- (4) 高效液相層析法的分析條件

分析裝置： HPLC

移動相 A： 甲醇：水 = 95：5(v/v)

移動相 B： 氯仿 = 100(v/v)

泵： Model 582

溶劑輸送系統

分析管柱： LiChrospher Si60(5 μ m)

HPLC-Cartridge(MERCK)

檢測器： 帶電粒子檢測器(Corona Dionex 公司)

注入體積： 20 μ L

管柱溫箱： 40°C (FLO 公司 model502)

分析時間： 40 分鐘

脫氣裝置： uniflows Degasys

Ultimate DV 3003

流速： 1mL/分鐘

梯度條件如下所示

0 至 15 分鐘

移動相 A： 1%→25%、 移動相 B： 99%→75%

15 至 20 分鐘

移動相 A： 25%→90%、 移動相 B： 75%→10%

20 至 25 分鐘

移動相 A： 90%、 移動相 B： 10%

25 至 30 分鐘

移動相 A： 90%→1%、 移動相 B： 10%→99%

30 至 40 分鐘

移動相 A： 1%、

移動相 B： 99%

【0011】 本發明的米糠萃取物含有 1.4 至 2.1 質量%的 γ -谷維素。 γ -谷維素是米糠的脂質中含有的阿魏酸與甾醇的酯，而且是 24-亞甲基環木菠蘿烯醇阿魏酸酯(24-methylene cycloartenyl ferulate)、環木菠蘿烯醇阿魏酸酯(Cycloartenyl Ferulate)、菜油甾醇阿魏酸酯(Campesterol ferulate)、 β -谷甾醇阿魏酸酯(β -Sitosterol ferulate)等的混合物。

【0012】 本發明米糠萃取物中的 γ -谷維素的含量可通過高效液相層析使用反相管柱用紫外線檢測器進行檢測。

【0013】 本發明的米糠萃取物含有以硬脂醯·油醯·卵磷脂(stearoyl oleoyl phosphatidylcholine)換算 18 至 28 質量%的磷脂。

【0014】 本發明米糠萃取物中的磷脂的含量可通過鉬藍分光光度法測定磷的濃度，並換算成硬脂醯·油醯·卵磷脂的量來求得。具體而言，從米糠萃取物用 Folch 法萃取脂質並灰化後，通過鉬藍分光光度法測定磷的濃度。

【0015】 本發明的米糠萃取物在水解時相對於水解前的質量含有 20 至 30 質量%的亞油酸、24 至 37 質量%的油酸、11 至 17 質量%的棕櫚酸。

【0016】 所述水解後的亞油酸、油酸、棕櫚酸的量

可通過以下方法進行測定。在米糠萃取物中加入 0.5mol/L 氫氧化鈉的甲醇溶液進行皂化，並添加三氟化硼甲醇複合物甲醇溶液進行甲酯化。加入己烷與飽和生理鹽水分配萃取脂肪酸的甲酯化物，並通過氣相層析使用氫焰離子化檢測器進行定量分析。

【0017】 本發明所使用的米糠萃取物在水解時相對於水解前的質量含有 1.7 至 2.6 質量%的植物甾醇。植物甾醇的主成分是 β -谷甾醇、豆甾醇、菜油甾醇。

【0018】 水解後的植物甾醇的量可通過以下方法進行測定。在米糠萃取物中依次加入氯化鈉水溶液、鄰苯三酚-乙醇溶液、氫氧化鉀水溶液、氫氧化鉀進行皂化。添加氯化鈉水溶液與己烷、乙酸乙酯混合液來分配萃取未皂化物。使用 silica cartridge 管柱從未皂化物分離植物甾醇組分，並將植物甾醇組分中的植物甾醇通過氣相層析使用氫焰離子化檢測器進行定量分析。

【0019】 作為本發明的米糠萃取物的萃取方法，可列舉溶劑萃取法、超臨界萃取法、管柱層析法等。

此外，具體的萃取操作如下所示。

【0020】 < 萃取方法 >

篩選在市場上流通的米糠後，使用正己烷等的溶劑進行脫脂。將所得到的油、脫脂糠等的粗原料通過蒸餾裝置進行脫溶劑，再進一步通過正己烷、丙酮、乙醇、水等的溶劑進行萃取。將這樣所得到的萃取液使用脫溶劑裝置再次進行脫溶劑可得到米糠萃取物。

【0021】 本發明的米糠萃取物可作為期待有抗氧化效果的製劑或者食品利用。此外，本發明的米糠萃取物可作為期待有 GLP-1 的產生促進的製劑或者食品利用。劑型可通過公知的方法與助劑一起製劑化成任意的形態來經口攝取(給予)。可作為膠囊劑或者片劑、顆粒劑、細粒劑、散劑、液狀來攝取(給予)。

攝取(給予)量可根據攝取(給予)方法與對象者的年齡、病狀、一般狀態等來改變，通常成人每 1kg 體重、每 1 天作為有效成分 0.1 至 500mg 較為適合。

實施例

【0022】 以下示出實施例並進一步詳細地說明本發明。

【0023】 實施例 1：米糠萃取物的製備(溶劑萃取)

將市場上流通的米糠進行篩選並得到去除了胚乳、異物的米糠。對 10kg 所得到的篩選完成的米糠使用 50L 的正己烷進行脫脂。重複 1 次該脫脂作業並得到脫脂米糠。通過蒸餾裝置從所得到的脫脂米糠中除去溶劑。

對 8kg 所得到的脫脂米糠，以 50L 的比例使用乙醇在 $70\pm 3^{\circ}\text{C}$ 的溫度條件下回流萃取 1 小時。重複 3 次該操作，對所得到的萃取液使用脫溶劑裝置除去乙醇。米糠萃取物中的醯化甾醇糖苷、 γ -谷維素、硬脂醯・油醯・卵磷脂換算的磷脂的濃度以及相對於水解前的質量的水解後的亞油酸、油酸、棕櫚酸、植物甾醇的濃度如下述表 1 所示。

【0024】 比較例 1：米糠萃取物的製備(溶劑萃取)

將市場上流通的米糠進行篩選並得到去除了胚乳、異物的米糠。對 10kg 所得到的篩選完成的米糠使用 50L 的正己烷進行脫脂。重複 3 次該脫脂作業並得到脫脂米糠。通過蒸餾裝置從所得到的脫脂米糠中除去溶劑。

對 8kg 所得到的脫脂米糠，以 50L 的比例使用丙酮在 $50\pm 3^{\circ}\text{C}$ 的溫度條件下回流萃取 1 小時。重複 3 次該操作，對所得到的萃取液使用脫溶劑裝置除去丙酮。米糠萃取物中的醯化甾醇糖苷、 γ -谷維素、硬脂醯・油醯・卵磷脂換算的磷脂的濃度以及相對於水解前的質量的水解後的亞油酸、油酸、棕櫚酸、植物甾醇的濃度如表 1 所示。

【0025】 表 1

	實施例 1	比較例 1
	(質量%)	(質量%)
醯化甾醇糖苷	3.4	3.2
γ -谷維素	1.7	0.6
磷脂(測定磷的濃度，並換算成硬脂醯·油醯·卵磷脂的量)	22.9	0.0
水解後的亞油酸	25.0	26.7
水解後的油酸	30.5	34.6
水解後的棕櫚酸	13.8	13.0
水解後的植物甾醇	2.1	1.6
以下為植物甾醇分類		
(菜油甾醇)	0.49	0.35
(豆甾醇)	0.29	0.21
(7-麥角甾醇)	0.02	0.03
(β -谷甾醇)	1.08	0.77
(異岩藻甾醇)	0.14	0.14
(7-豆甾醇)	0.04	0.06
(燕麥甾醇)	0.06	0.06

【0026】 過氧化物價試驗

在三角燒瓶(200mL)中按照下述所示的過氧化物價(以下為 POV)與採集量的關係採集實施例 1、比較例 1 的米糠萃取物。在其中加入 15mL 氯仿溶解。進而，加入 15mL 醋酸及 1mL 碘化鉀飽和溶液，放置 5 分鐘並加入 75mL 水激烈振盪混合後，加入數滴 1% 澱粉溶液，用 0.01mol/L 硫代

硫酸鈉溶液進行滴定，並將成為無色的時刻作為終點。與正式試驗平行進行空白試驗。從 $POV = (a-b) \times F \times 10 / S$ (a：正式試驗的滴定量，b：空白試驗的滴定量，F：0.01mol/L 硫代硫酸鈉溶液的效價，S：試樣的採集量)式求得 POV。且，預先通過預試驗求得 POV 的估算值，按照下述表 2 的採集量的範圍秤量測定試樣。過氧化物價測定結果如表 3 所示。

【0027】 表 2

POV	採集量(g)
1 以下	10
1 至 10	10 至 5
10 至 50	5 至 1
50 以上	1 至 0.5

【0028】 表 3

	實施例 1	比較例 1
POV (meq/kg)	0.1	26.4

【0029】 實施例 1 的米糠萃取物顯示出顯著的抗氧化效果。

【0030】 DPPH 自由基去除活性試驗

在 96 孔中分別注入各 150 μ L 的用 100%乙醇將濃度調整為 3 個階段的樣品(實施例 1 或者比較例 1)。接著，在各孔中加入 90 μ L 的 200 μ mol/L 的 DPPH 乙醇溶液使其反應，用分光光度計測定 2 分鐘後的 520nm 處的吸光度

(OD)。且，將加入乙醇來代替 DPPH 溶液的物質作為各樣品濃度的空白組，將加入乙醇來代替樣品的物質作為對照組，將不加入 DPPH 及樣品而僅加入乙醇的物質作為空白對照組。從下式計算各濃度的 DPPH 去除率(%)，並求得具有 DPPH 自由基 50%去除功能的樣品濃度(EC50)。

去除率(%) = (1 - (樣品 OD - 空白組 OD) / (對照組 OD - 空白對照組 OD)) × 100

結果如表 4 所示。

【0031】 表 4

	EC50 (μ g/ml)
實施例 1	1143
比較例 1	1887

【0032】 實施例 1 的米糠萃取物顯示出顯著的抗氧化效果。

【0033】 GLP-1 產生試驗

按照以下的方法對 GLP-1 產生促進作用進行試驗。

【0034】 使用了培養細胞的 GLP-1 產生試驗

將 NCI-H716 細胞(來自人結腸癌的細胞) 1×10⁵ 個細胞接種到 75cm² 的細胞培養瓶中，用含 10% FBS 的 RPMI1640 培養基在 37℃、5% CO₂ 的條件下進行 14 天培養。且，NCI-H716 細胞從 ATCC(American Type Culture Collection) 獲得。培養後，在塗布了基質膠(matrigel)的 24 孔盤中使成為 4×10⁴ 個細胞 / 孔來進行接種，並用含 10%FBS 的

DMEM 培養基進行 1 天培養。

其後，用 Hanks 緩衝液進行 2 次洗淨並添加試驗試樣，用無血清 DMEM 培養基進行 2 小時培養。培養結束後，將在培養液中產生的 GLP-1 量使用“GLP-1 ELISA kit (Glucagon-Like Peptide-1 Cat # EGLP-35K: Millipore 公司)”進行測定。且，對照組為 1% DMSO，作為陽性對照組所使用的油醯乙醇胺(OEA)是已知具有 GLP-1 產生促進作用的化合物。添加該 OEA 使成為 50 μ M。

【0035】 試驗物質

將實施例 1 所得到的米糠萃取物用於試驗。如下進行添加，以便使米糠萃取物的濃度成為 1000 μ g/ml/1% DMSO (二甲基亞砷)，用 DMEM(FBS-,PS-)培養基溶解且最終培養液中的米糠萃取物的濃度成為 250 μ g/ml、500 μ g/ml、1000 μ g/ml。

【0036】 結果

GLP-1 測定結果通過將僅有 1% DMSO 時所得到的測定值作為 1 時的相對值來求得。測定結果如第 1 圖所示。在實施例 1 的米糠萃取物中確認到了與 OEA 同等以上的 GLP-1 產生促進作用，進而，也看到了濃度依存性。

從該試驗表明，本發明的米糠萃取物具有 GLP-1 產生促進作用，在生體機能維持上有用。

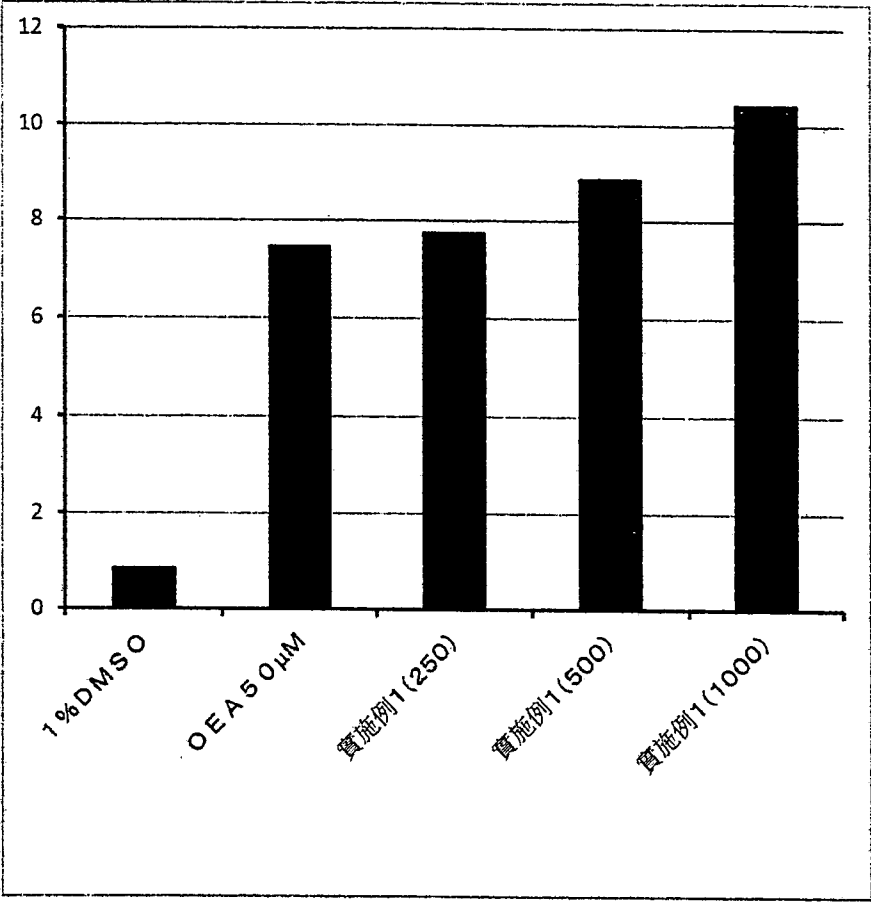
【符號說明】

無。

申請專利範圍

1. 一種米糠萃取物，其特徵在於，含有 2.7 至 4.1 質量％的醯化甾醇糖苷、1.4 至 2.1 質量％的 γ -谷維素、以硬脂醯・油醯・卵磷脂換算 18 至 28 質量％的磷脂，且在水解時相對於水解前的質量含有 20 至 30 質量％的亞油酸、24 至 37 質量％的油酸、11 至 17 質量％的棕櫚酸、1.7 至 2.6 質量％的植物甾醇。
2. 一種抗氧化劑，其特徵在於，以申請專利範圍第 1 項所述的米糠萃取物作為有效成分。
3. 一種 GLP-1 產生促進劑，其特徵在於，以申請專利範圍第 1 項所述的米糠萃取物作為有效成分。

圖式



第1圖